

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
13. Februar 2003 (13.02.2003)

PCT

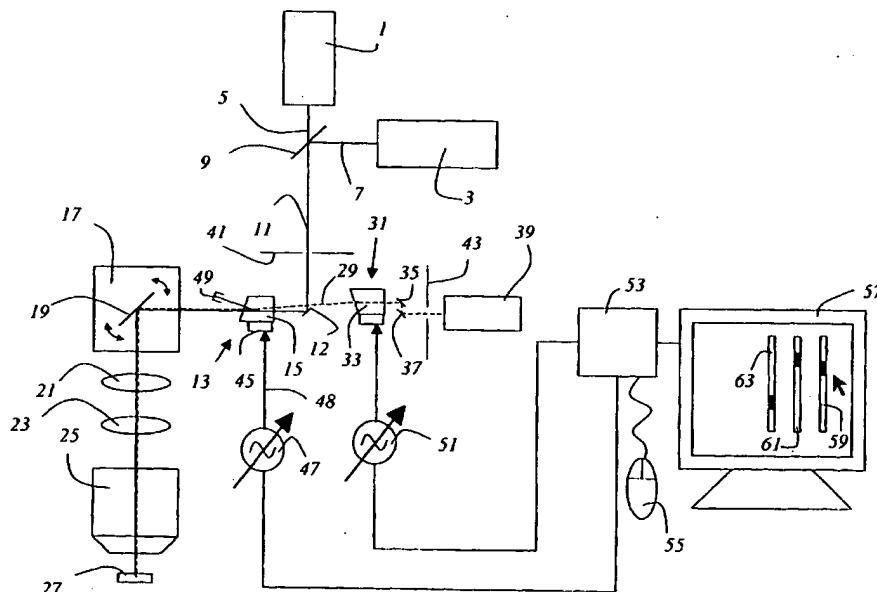
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 03/012516 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: G02B 21/00 (72) Erfinder; und  
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BIRK, Holger  
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/08380 [DE/DE]; Am Rohrbächle 10, 74909 Meckesheim (DE).  
(22) Internationales Anmeldedatum: 26. Juli 2002 (26.07.2002) (74) Anwalt: REICHERT, Werner, F.; Leica Microsystems AG, Corporate Patents + Trademarks Department, Ernst-Leitz-Strasse 17-37, 35578 Wetzlar (DE).  
(25) Einreichungssprache: Deutsch  
(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.  
(30) Angaben zur Priorität: 101 37 155.1 30. Juli 2001 (30.07.2001) DE  
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): LEICA MICROSYSTEMS HEIDELBERG GMBH [DE/DE]; Am Friedensplatz 3, 68165 Mannheim (DE).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: OPTICAL ARRANGEMENT AND SCAN MICROSCOPE

(54) Bezeichnung: OPTISCHE ANORDNUNG UND SCANMIKROSKOP



(57) Abstract: The invention relates to an optical arrangement for spatially separating an illumination light beam (11) and a detection light beam (29) with an acousto-optical component (13). The arrangement is characterized in that a compensation element (31) is provided that, in a single passage, compensates for a splitting of the detection light beam (29) caused by the acousto-optical component (13) due to double refraction. The invention also relates to a scan microscope comprising an acousto-optical component (13) and a compensation element (31).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 03/012516 A1



(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

— mit internationalem Recherchenbericht

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*

---

(57) **Zusammenfassung:** Eine optische Anordnung zur räumlichen Separierung eines Beleuchtungslichtstrahls (11) und eines Detektionslichtstrahls (29) mit einem akustooptischen Bauteil (13) ist offenbart. Die Anordnung ist dadurch gekennzeichnet, dass ein Kompensationselement (31) vorgesehen ist, das eine von dem akustooptischen Bauteil (13) durch Doppelbrechung verursachte Aufspaltung des Detektionslichtstrahls (29) bei einmaligen Durchlauf kompensiert. Weiterhin ist ein Scanmikroskop mit einem akustooptischen Bauteil (13) und einem Kompensationselement (31) offenbart.

### **Optische Anordnung und Scanmikroskop**

Die Erfindung betrifft eine optische Anordnung zur räumlichen Separierung eines Beleuchtungslichtstrahls und eines Detektionslichtstrahls mit einem akustooptischen Bauteil.

- 5 Weiterhin betrifft die Erfindung ein Scanmikroskop mit einer Lichtquelle, die einen Beleuchtungslichtstrahl erzeugt und mit einem Detektor, der einen von einer Probe ausgehenden Detektionslichtstrahl empfängt und mit einem akustooptischen Bauteil zur räumlichen Separierung des Beleuchtungslichtstrahls und des Detektionslichtstrahls.
- 10 In der Scanmikroskopie wird eine Probe mit einem Lichtstrahl beleuchtet, um das von der Probe emittierte Detektionslicht, als Reflexions- oder Fluoreszenzlicht, zu beobachten. Der Fokus eines Beleuchtungslichtstrahles wird mit Hilfe einer steuerbaren Strahlableitvorrichtung, im Allgemeinen durch Verkippen zweier Spiegel, in einer Probenebene bewegt, wobei die
- 15 Ablenkachsen meist senkrecht aufeinander stehen, so dass ein Spiegel in x-, der andere in y-Richtung ablenkt. Die Verkipfung der Spiegel wird beispielsweise mit Hilfe von Galvanometer-Stellelementen bewerkstelligt. Die Leistung des vom Objekt kommenden Detektionslichtes wird in Abhängigkeit von der Position des Abtaststrahles gemessen. Üblicherweise werden die
- 20 Stellelemente mit Sensoren zur Ermittlung der aktuellen Spiegelstellung ausgerüstet. Das Beleuchtungslicht wird über einen Strahlteiler eingekoppelt. Das vom Objekt kommende Fluoreszenz- oder Reflexionslicht passiert den Strahlteiler und gelangt anschließend zu den Detektoren.
- Speziell in der konfokalen Scanmikroskopie wird ein Objekt mit dem Fokus
- 25 eines Lichtstrahles in drei Dimensionen abgetastet.

Ein konfokales Scanmikroskop umfasst im Allgemeinen eine Lichtquelle, eine Fokussieroptik, mit der das Licht der Quelle auf eine Lochblende – die sog. Anregungsblende – fokussiert wird, einen Strahlteiler, eine Strahlableitvorrichtung zur Strahlsteuerung, eine Mikroskopoptik, eine  
5 Detektionsblende und die Detektoren zum Nachweis des Detektions- bzw. Fluoreszenzlichtes. Das Beleuchtungslicht wird über einen Strahlteiler eingekoppelt. Das vom Objekt kommende Fluoreszenz- oder Reflexionslicht gelangt über die Strahlableitvorrichtung zurück zum Strahlteiler, passiert diesen, um anschließend auf die Detektionsblende fokussiert zu werden,  
10 hinter der sich die Detektoren befinden. Diese Detektionsanordnung wird Descan-Anordnung genannt. Detektionslicht, das nicht direkt aus der Fokusregion stammt, nimmt einen anderen Lichtweg und passiert die Detektionsblende nicht, so dass man eine Punktinformation erhält, die durch sequentielles Abtasten des Objekts mit dem Fokus des  
15 Beleuchtungslichtstrahles zu einem dreidimensionalen Bild führt. Meist wird ein dreidimensionales Bild durch schichtweise Bilddatennahme erzielt.

Aus der Offenlegungsschrift Leica DE 199 06 757 A1 ist eine optische Anordnung im Strahlengang einer zur Fluoreszenzanregung geeigneten Lichtquelle, vorzugsweise im Strahlengang eines konfokalen Laser-Scanning-  
20 Mikroskops, mit mindestens einem spektral selektiven Element zum Einkoppeln des Anregungslichts mindestens einer Lichtquelle in das Mikroskop und zum Ausblenden des am Objekt gestreuten und reflektierten Anregungslichts bzw. der Anregungswellenlänge aus dem über den Detektionsstrahlengang vom Objekt kommenden Licht, bekannt. Die  
25 Anordnung ist zur variablen Ausgestaltung bei einfachster Konstruktion dadurch gekennzeichnet, dass durch das spektral selektive Element Anregungslicht unterschiedlicher Wellenlänge ausblendbar ist. Alternativ ist eine solche optische Anordnung dadurch gekennzeichnet, dass das spektral selektive Element auf die auszublendende Anregungswellenlänge einstellbar  
30 ist. Weiterhin ist in der genannten Schrift ausgeführt, dass das spektral selektive Element als AOTF (Acousto-Optical-Tunable-Filter) oder als AOD (Acousto-Optical-Deflector) ausgeführt sein kann. In der genannten

Offenlegungsschrift ist beschrieben, dass das spektral selektive Element eine räumlich spektrale Auffächerung verursachen kann, die beispielsweise mit drei weiteren optischen Bauteilen kompensierbar ist.

5 Aus der Offenlegungsschrift DE 198 59 314 A1 ist eine Anordnung eines lichtbeugenden Elementes zur Separierung von Anregungs- und Emissionslicht in einem mikroskopischen Strahlengang, vorzugsweise in einem konfokalen Mikroskop, und insbesondere in einem Laser-Scanning-Mikroskop, bekannt, wobei das lichtbeugende Element sowohl vom Anregungslicht als auch vom Emissionslicht durchlaufen wird und mindestens  
10 eine Wellenlänge der Anregung durch Beugen beeinflusst, während andere von der Probe emittierte Wellenlängen das Element unbeeinflusst durchlaufen und dadurch räumlich vom Anregungslicht getrennt werden. Die Anordnung beinhaltet einen AOTF.

15 Aus der Offenlegungsschrift DE 199 44 355 A1 ist eine optische Anordnung im Strahlengang eines Laser-Scanning-Mikroskops, mit mindestens einem auf die Wellenlänge des Anregungslichts einer Lichtquelle einstellbaren spektral selektiven Element, welches Anregungslicht der Lichtquelle in das Mikroskop einkoppelt, das an einem Objekt gestreute und reflektierte Anregungslicht aus dem Detektionsstrahlengang ausblendet und das vom Objekt kommende  
20 Detektionslicht nicht ausblendet, bekannt. Die optische Anordnung ist zur konstruktiven Vereinfachung der bekannten Anordnung sowie zur Erweiterung der bislang möglichen Detektionsvarianten dadurch gekennzeichnet, dass dem Element ein weiteres optisches Bauteil nachgeordnet ist, nach dessen Durchlaufen die dispersiven und/oder doppelbrechenden Eigenschaften des  
25 Detektionslichts detektierbar und in einer bevorzugten Ausgestaltung coaxial vereinigt sind.

Die genannten Scanmikroskope haben gegenüber Scanmikroskopen, bei denen die Trennung von Beleuchtungs- und das Detektionslicht mit einem Strahlteiler realisiert ist, den Vorteil der spektralen Flexibilität, da das  
30 akustooptische Bauteil durch Ansteuerung mit Schallwellen unterschiedlicher Frequenz auf jede beliebige optische Wellenlänge für Beleuchtung bzw. Detektionslicht einstellbar ist. Darüber hinaus ist die spektrale Trennung bei

diesen Scanmikroskopen um ein Vielfaches besser, als bei Scanmikroskopen mit Strahlteilern.

Ein Nachteil von optischen Anordnungen mit einem akustooptischen Bauteil zur Separierung von Beleuchtungs- und Detektionslicht und von  
5 Scanmikroskopen mit einem akustooptischen Bauteil zur Separierung von Beleuchtungs- und Detektionslicht besteht darin, dass das akustooptische Bauteil doppelbrechend ist, was zu einer störenden Aufspaltung des Detektionslichtstrahles führt. Außerdem weist das akustooptische Bauteil meist eine Prismenwirkung auf, was eine spektrale Aufspaltung des  
10 Detektionslichtstrahles verursacht. Die bekannten Anordnungen kompensieren diese Effekte nur unzureichend und unter Inkaufnahme hoher Verluste an Detektionslichtleistung. Insbesondere Anordnungen, die drei weitere optische Bauteile zur Kompensation benötigen, sind teuer und aufwendig in der Justierung.

15 Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, eine optische Anordnung anzugeben, die eine Separierung eines Beleuchtungslichtstrahles und eines Detektionslichtstrahles verlustarm und weitgehend ohne störende Aufspaltungen ermöglicht.

Obige Aufgabe wird durch eine optische Anordnung, die die Merkmale des  
20 kennzeichnenden Teils des Anspruchs 1 beinhaltet, gelöst.

Es ist weiterhin Aufgabe der Erfindung ein Scanmikroskop anzugeben, bei dem störende Aufspaltungen verlustarm weitgehend kompensiert sind.

Diese Aufgabe wird durch ein optisches Element, das die Merkmale des kennzeichnenden Teils des Anspruchs 9 beinhaltet, gelöst.

25 Die Erfindung hat den Vorteil, dass die Universalität und Flexibilität akustooptischer Bauteile bei der Separierung eines Beleuchtungslichtstrahles und eines Detektionslichtstrahles weitgehend ohne Einschränkungen nutzen zu können.

In einer bevorzugten Ausgestaltung des Scanmikroskops bzw. der optischen  
30 Anordnung ist das akustooptische Bauteil als AOTF (Acousto-Optical-

Tunable-Filter) ausgestaltet. Eine Ausgestaltungsform mit einem AOD (Acousto-Optical-Deflector) oder einem AOM (Acousto-Optical-Modulator) ist auch realisierbar. Das akustooptische Element ist von einer akustischen Welle durchlaufen, die in Abhängigkeit von ihrer Frequenz nur mit Licht einer Wellenlänge wechselwirkt. Licht anderer Wellenlängen bleibt von der akustischen Welle unbeeinflusst. Die akustische Welle wird vorzugsweise von einem elektrisch angesteuerten Piezo-Schallerzeuger generiert, der von einer Hochfrequenzquelle angesteuert ist. Die Frequenz der Hochfrequenz wird so gewählt, dass nur die Anteile der gewünschten Wellenlänge des Beleuchtungslichtstrahls zur Probe gelangen. Die übrigen, von der akustischen Anregung nicht beeinflussten Anteile des Beleuchtungslichtstrahls werden in eine Strahlfalle gelenkt. Durch Variation der Amplitude der akustischen Welle ist die Leistung des aus dem Beleuchtungslichtstrahl ausgekoppelten Strahls auswählbar. Wenn der Detektionslichtstrahl Fluoreszenzlicht beinhaltet, das naturgemäß in der Wellenlänge gegenüber dem Beleuchtungslichtstrahl verschoben ist, so passiert der Detektionslichtstrahl das akustooptische Bauteil ohne Beeinflussung durch die Schallwelle.

In einer bevorzugten Ausgestaltung kompensiert das Kompensationselement eine von dem akustooptischen Bauteil durch Dispersion verursachte Aufspaltung des Detektionslichtstrahls zumindest weitgehend. In einer besonders einfachen Ausführung sind die Grenzflächen des Kompensationselements derart angeordnet, dass der spektral aufgespaltene, fächerförmig divergierende Detektionslichtstrahl nach dem Durchlaufen des Kompensationselements zumindest parallel verläuft. Der Abstand von akustooptischem Bauteil und Kompensationselement ist in dieser Ausführung möglichst klein gewählt, um eine zu große räumliche Aufspaltung des Detektionslichtstrahls zwischen akustooptischem Bauteil und Kompensationselement zu vermeiden. Räumliche Aufspaltungen in der Größenordnung von einem halben Strahldurchmesser sind akzeptabel.

In einer ganz besonders bevorzugten Ausführung weisen das Kompensationselement und das akustooptische Bauteil die gleiche äußere

Form auf. Das Kompensationselement und das akustooptische Bauteil sind bezüglich der Ausbreitungsrichtung des auf das akustooptische Bauteil treffenden Detektionslichtstrahls gegeneinander um 180 Grad verdreht orientiert. In der Regel ist das so orientierte Kompensationselement seitlich zu der durch die

5 Ausbreitungsrichtung des auf das akustooptische Bauteil treffenden Detektionslichtstrahls definierten Achse versetzt, damit der Detektionslichtstrahl auf das Kompensationselement trifft. Vorzugsweise ist das Kompensationselement aus dem gleichen Material hergestellt, wie das akustooptische Bauteil und hat die gleiche Kristallstruktur. Die durch die doppelbrechenden Eigenschaften

10 des akustooptischen Bauteils hervorgerufene Aufspaltung des Detektionslichtstrahles in Teilstrahlen unterschiedlicher Polarisation wird aufgehoben.

In einer bevorzugten Ausgestaltung ist das akustooptische Bauteil nicht nur mit der zu der gewünschten Wellenlänge des Beleuchtungslichtstrahles

15 korrespondierenden ersten Hochfrequenz angesteuert, denn dies blendet nur die Anteile der Wellenlänge des Beleuchtungslichtstrahles mit einer Polarisationsrichtung vollständig aus. Die Anteile der anderen Polarisationsrichtung werden durch Ansteuerung des akustooptischen Bauteils mit einer weiteren Hochfrequenz, die sich von der ersten

20 Hochfrequenz unterscheidet, weitgehend restlos ausgeblendet.

In einer weiteren Ausführungsform ist das Kompensationselement ein weiteres akustooptisches Bauteil. Ganz besonders vorteilhaft ist es, das Kompensationselement auch mit einer Hochfrequenz anzusteuern, um im Detektionslichtstrahl verbliebene Anteile mit der Wellenlänge des

25 Beleuchtungslichtstrahles auszublenden.

In einer anderen Ausführungsform ist eine Temperaturstabilisierung des akustooptischen Bauteils bzw. des Kompensationselements vorgesehen. In einer weiteren Ausführungsvariante ist zur Vermeidung von Nachteilen durch Temperaturschwankungen oder von Schwankungen der Wellenlänge des

30 Beleuchtungslichtstrahls vorgesehen, die Hochfrequenz in Abhängigkeit von der Temperatur zu steuern oder zu regeln. Eine andere Variante sieht in Verwirklichung dieses Ziels vor, die Wellenlänge des



Beleuchtungslichtstrahles in Abhängigkeit von der Temperatur zu steuern oder zu regeln.

In einer bevorzugten Ausgestaltung ist dem akustooptische Bauteil und dem Kompensationselement eine Vorrichtung zur Generierung eines Strahlversatzes nachgeordnet ist. Hierdurch wird erreicht, dass die Strahlachse des Detektionslichtstrahles beim Einlaufen in die optische Anordnung zur Strahlachse beim Auslaufen coaxial oder zumindest parallel ist. Dies Vereinfacht die Justierbarkeit der optischen Anordnung bzw. des Scanmikroskops; außerdem ist die Anordnung in einem Scanmikroskop in dieser Ausgestaltung leichter gegen einen konventionellen Strahlteiler austauschbar.

In einer besonders bevorzugten Ausführung ist das akustooptische Bauteil mit dem Kompensationselement verkittet. In einer anderen Ausführung ist ein Zwischenelement vorgesehen, das mit dem akustooptische Bauteil und mit dem Kompensationselement verkittet ist. Die verkitteten Ausführungen haben den Vorteil, dass Lichtleistungsverluste durch Reflexionen an den einander zugewandten Grenzflächen vom akustooptischen Bauteil und vom Kompensationselement weitgehend vermeidbar sind. Am Zwischenelement ist vorzugsweise ein Eintrittsfenster für einen Beleuchtungslichtstrahl vorgesehen.

In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt und wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben, wobei gleich wirkende Elemente mit denselben Bezugszeichen versehen sind. Dabei zeigen:

- Fig. 1 ein erfindungsgemäßes Scanmikroskop,
- Fig. 2 eine erfindungsgemäße optische Anordnung,
- Fig. 3 eine weitere optische Anordnung,
- Fig. 4 eine weitere optische Anordnung und
- Fig. 5 eine weitere optische Anordnung.

Fig. 1 zeigt ein erfindungsgemäßes Scanmikroskop, das als konfokales

Scanmikroskop ausgeführt ist, mit zwei Lasern 1, 3, deren Emissionslichtstrahlen 5, 7, die unterschiedliche Wellenlängen aufweisen, mit dem dichroitischen Strahlvereiniger 9 zu einem Beleuchtungslichtstrahl 11 vereinigt werden. Das Scanmikroskop weist ein akustooptisches Bauteil 13 auf, das als AOTF 15 ausgeführt ist. Der Beleuchtungslichtstrahl 11 wird von einem Umlenkspiegel 12 zum akustooptischen Bauteil 13 reflektiert. Vom akustooptischen Bauteil 13 gelangt der Beleuchtungslichtstrahl 11 auf eine Strahlableitvorrichtung 17, die einen kardanischn aufgehängten Scanspiegel 19 beinhaltet, und den Beleuchtungslichtstrahl 11 durch die Scanoptik 21, die Tubusoptik 23 und das Objektiv 25 über bzw. durch die Probe 27 führt. Der von der Probe kommende Detektionslichtstrahl 29 durchläuft in umgekehrter Richtung die Scanoptik 21, die Tubusoptik 23 und das Objektiv 25 und gelangt über den Scanspiegel 19 zum akustooptischen Bauteil 13, das den Detektionslichtstrahl 29 einem Kompensationselement 31, das als weiteres akustooptisches Bauteil 33 ausgeführt ist, zuführt. Nach Durchlaufen des Kompensationselements 31 trifft der Detektionslichtstrahl 29 auf ein Spiegelpaar aus einem ersten Spiegel 35 und einem zweiten Spiegel 37. Das Spiegelpaar dient dazu, den Detektionslichtstrahl 29 auf die gewünschte Strahlachse, nämlich die Strahlachse, die der Detektionslichtstrahl 29 beim Austreten aus der Strahlableitvorrichtung 17 definiert, zu bringen. Das Spiegelpaar leitet den Detektionslichtstrahl 29 dem Detektor 39, der als Multibanddetektor ausgeführt ist, zu. Der Beleuchtungslichtstrahl 11 ist in der Zeichnung als durchgezogene Linie und der Detektionslichtstrahl 29 als gestrichelte Linie dargestellt. Das bei einem konfokalen Scanmikroskop üblicherweise vorgesehene Beleuchtungspinhole 41 und das Detektionspinhole 43 sind der Vollständigkeit halber schematisch eingezeichnet. Weggelassen sind wegen der besseren Anschaulichkeit hingegen einige optische Elemente zur Führung und Formung der Lichtstrahlen. Diese sind einem auf diesem Gebiet tätigen Fachmann hinlänglich bekannt. Das akustooptische Bauteil 13, das zum Selektieren der Anteile des Beleuchtungslichtstrahles der ausgewählten Wellenlängen dient, ist als AOTF 15 ausgestaltet, der von einer akustischen Welle durchlaufen ist. Die akustische Welle wird von einem elektrisch angesteuerten Piezo-

Schallerzeuger 45 generiert. Die Ansteuerung erfolgt von einer Hochfrequenzquelle 47 aus, die eine elektromagnetische Hochfrequenzwelle, die mehrere einstellbare HF-Frequenzen aufweist, erzeugt. Die Übertragung der elektromagnetischen Hochfrequenzwelle erfolgt über ein Koaxialkabel 48.

5 Die HF-Frequenzen sind so gewählt, dass nur die Anteile der gewünschten Wellenlängen des Beleuchtungslichtstrahls 11 zur Strahlableitrichtung 17 gelangen. Die übrigen, von der akustischen Anregung nicht beeinflussten Anteile des Beleuchtungslichtstrahls 11 werden in eine Strahlfalle 49 gelenkt. Durch Variation der Amplitude der akustischen Welle ist die Leistung des

10 Lichtes der gewünschten Wellenlängen des Beleuchtungslichtstrahls 11 auswählbar. Kristallschnitt und Orientierung des akustooptischen Bauteils 13 sind dabei so gewählt, dass bei gleicher Einkoppelrichtung verschiedene Wellenlängen in die gleiche Richtung abgelenkt werden. Das weitere akustooptische Bauteil 33 ist ebenfalls als AOTF ausgeführt und wird von

15 einer weiteren Hochfrequenzquelle 51 mit einer weiteren elektromagnetischen Hochfrequenzwelle angesteuert. Die HF-Frequenz der weiteren elektromagnetischen Hochfrequenzwelle ist derart gewählt, dass die Anteile des Detektionslichtstrahles 29, die die Wellenlänge des Beleuchtungslichtstrahles 11 aufweisen, ausgeblendet werden. Zum

20 Auswählen der HF-Frequenzen ist ein Computer 53 vorgesehen. Der Computer 53 steuert entsprechend der Benutzervorgabe die Hochfrequenzquelle 47 und die weitere Hochfrequenzquelle 51. Der Benutzer nimmt Einstellungen mit Hilfe der Computermouse 55 vor. Auf dem Monitor 57 sind für jede ausgewählte HF-Frequenz ein Slider 59, 61, 63 dargestellt, der

25 zur Einstellung der Amplitude dient.

Fig. 2 zeigt eine erfindungsgemäße optische Anordnung. Der linear polarisierte Beleuchtungslichtstrahl 11, der eine sagittale Polarisationsrichtung aufweist, wird von einem Umlenkspiegel 12 zu einem akustooptischen Bauteil 13, das als AOTF 15 ausgeführt ist, reflektiert. Das akustooptische Bauteil 13,

30 das zum Selektieren der Anteile des Beleuchtungslichtstrahles der ausgewählten Wellenlängen dient, ist als AOTF 15 ausgestaltet, der von einer akustischen Welle durchlaufen ist. Die akustische Welle wird von einem

elektrisch angesteuerten Piezo-Schallerzeuger 45 generiert. Die Ansteuerung erfolgt von einer Hochfrequenzquelle 47 aus, die eine elektromagnetische Hochfrequenzwelle, die mehrere einstellbare HF-Frequenzen aufweist, erzeugt. Die Übertragung der elektromagnetischen Hochfrequenzwelle erfolgt  
5 über ein Koaxialkabel 48. Der Beleuchtungslichtstrahl 11 verlässt das akustooptische Element 13 mit um 90 Grad gedrehter Polarisationsrichtung, also mit tangentialer Polarisationsrichtung. Koaxial zum austretenden Beleuchtungslichtstrahl 11 tritt ein Detektionslichtstrahl 29 in das akustooptische Bauteil ein. Der Detektionslichtstrahl weist sowohl Anteile mit  
10 sagittaler, als auch mit tangentialer Polarisationsrichtung auf. Der Detektionslichtstrahl durchläuft den AOTF 15, wobei Anteile, die die Wellenlänge des Beleuchtungslichtstrahles aufweisen, weitgehend ausgeblendet werden. Die Ausblendung ist jedoch nur für die Anteile mit tangentialer Polarisationsrichtung vollständig. Nach dem Durchlaufen des  
15 AOTF 15 trifft der Detektionslichtstrahl 29 auf ein Kompensationselement 31, das als weiteres akustooptisches Bauteil 33 ausgeführt ist. Das weitere akustooptische Bauteil 33 ist ebenfalls als AOTF ausgeführt und wird von einer weiteren Hochfrequenzquelle 51 mit einer weiteren elektromagnetischen Hochfrequenzwelle angesteuert. Die HF-Frequenz der weiteren  
20 elektromagnetischen Hochfrequenzwelle ist derart gewählt, dass die Anteile des Detektionslichtstrahles 29, die die Wellenlänge des Beleuchtungslichtstrahles 11 und eine saggitale Polarisationsrichtung aufweisen, ausgeblendet werden. Die Erzeugung der Schallwelle erfolgt im Kompensationselement 31 ebenfalls mit einem elektrisch angesteuerten  
25 Piezo-Schallerzeuger 65. Das Kompensationselement 31 und das akustooptische Bauteil 13 weisen die gleiche äußere Form und die gleiche Kristallstruktur auf. Das Kompensationselement 31 und das akustooptische Bauteil 13 sind bezüglich der Ausbreitungsrichtung des auf das akustooptische Bauteil treffenden Detektionslichtstrahls 29 gegeneinander um  
30 180 Grad verdreht orientiert. In der Regel ist das so orientierte Kompensationselement seitlich zu der durch die Ausbreitungsrichtung des auf das akustooptische Bauteil treffenden Detektionslichtstrahls definierten Achse versetzt, damit der Detektionslichtstrahl auf das Kompensationselement trifft.

Fig. 3 zeigt eine weitere optische Anordnung, die im Wesentlichen der in Fig. 2 beschriebenen Anordnung entspricht. Zusätzlich ist als Vorrichtung zur Generierung eines Strahlversatzes ein Spiegelpaar 67 vorgesehen. Nach Durchlaufen des Kompensationselements 31 trifft der Detektionslichtstrahl 29 auf das Spiegelpaar 67 aus einem ersten Spiegel 35 und einem zweiten Spiegel 37. Das Spiegelpaar dient dazu, den Detektionslichtstrahl 29 auf die gewünschte Achse 69 zu bringen.

Fig. 4 zeigt eine weitere optische Anordnung. Bei dieser Anordnung ist ein Zwischenelement 71, das mit dem akustooptischen Bauteil 13 und mit dem Kompensationselement 31 verkittet ist, vorgesehen. In dieser Anordnung kommt es an den einander zugewandten Grenzflächen des Kompensationselements 31 und des akustooptischen Bauteils 13 nicht zu störenden Reflexionen. Der Brechungsindex des Zwischenelements 71 und der des Kitts ist an die Brechungsindizes des Kompensationselements 31 und des akustooptischen Bauteils 13 angepasst. Dem Kompensationselement 31 ist als Vorrichtung zur Generierung eines Strahlversatzes ein Glasblock 73 mit möglichst hohem Brechungsindex nachgeordnet, der einerseits den Detektionslichtstrahl 29 auf die gewünschte Achse bricht und andererseits eine durch das akustooptische Bauteil 13 oder durch das Kompensationselement 31 verursachte spektrale Aufspaltung kompensiert.

Fig. 5 zeigt eine weitere optische Anordnung. Das akustooptische Bauteil ist in dieser Anordnung so aufgebaut, dass der in das akustooptische Bauteil eintretende Beleuchtungslichtstrahl und der aus dem Bauteil austretende Detektionslichtstrahl je ein eigens Ein- bzw. Austrittsfenster hat. Diese optische Anordnung hat den Vorteil, dass der Detektionslichtstrahl zwar eine spektrale Auffächerung erfährt, der aufgefächerte Detektionslichtstrahl jedoch zwischen dem akustooptischen Bauteil und dem Kompensationselement nahezu parallel verläuft, was die Kompensation durch das Kompensationselement verbessert.

Die Erfindung wurde in Bezug auf eine besondere Ausführungsform beschrieben. Es ist jedoch selbstverständlich, dass Änderungen und

Abwandlungen durchgeführt werden können, ohne dabei den Schutzbereich der nachstehenden Ansprüche zu verlassen.

**Bezugszeichenliste:**

	1	Laser
	3	Laser
5	5	Emissionslichtstrahl
	7	Emissionslichtstrahl
	9	Strahlvereiniger
	11	Beleuchtungslichtstrahl
	12	Umlenkspiegel
10	13	akustooptisches Bauteil
	15	AOTF
	17	Strahlablenkeinrichtung
	19	Scanspiegel
	21	Scanoptik
15	23	Tubusoptik
	25	Objektiv
	27	Probe
	29	Detektionslichtstrahl
	31	Kompensationselement
20	33	weiteres akustooptisches Bauteil
	35	erster Spiegel
	37	zweiter Spiegel
	39	Detektor
	41	Beleuchtungspinhole
25	43	Detektionspinhole
	45	Piezo-Schallerzeuger
	47	Hochfrequenzquelle
	48	Koaxialkabel
	49	Strahlfalle
30	51	weitere Hochfrequenzquelle
	53	Computer
	55	Computermaus
	57	Monitor

- 59 Slider
- 61 Slider
- 63 Slider
- 65 Piezo-Schallerzeuger
- 5 67 Spiegelpaar
- 69 Achse
- 71 Zwischenelement
- 73 Glasblock



### Patentansprüche

1.       Optische Anordnung zur räumlichen Separierung eines Beleuchtungslichtstrahls (11) und eines Detektionslichtstrahls (29) mit einem akustooptischen Bauteil (13), dadurch gekennzeichnet, dass ein  
5   Kompensationselement (31) vorgesehen ist, das eine von dem akustooptischen Bauteil (13) durch Doppelbrechung verursachte Aufspaltung des Detektionslichtstrahls (29) bei einmaligen Durchlauf kompensiert.
2.       Optische Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das akustooptische Bauteil (13) ein AOTF (Acousto-Optical-Tunable-  
10   Filter) (15) oder ein AOD (Acousto-Optical-Deflector) oder ein AOM (Acousto-Optical-Modulator) ist.
3.       Optische Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Kompensationselement (31) eine von dem akustooptischen Bauteil (13) durch Dispersion verursachte Aufspaltung des Detektionslichtstrahls (29)  
15   kompensiert.
4.       Optische Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Kompensationselement (31) und das akustooptische Bauteil (13) die gleiche äußere Form aufweisen und das Kompensationselement (31) und das akustooptische Bauteil (13) bezüglich  
20   der Ausbreitungsrichtung des auf das akustooptische Bauteil treffenden Detektionslichtstrahls (29) gegeneinander um 180 Grad verdreht orientiert sind.
5.       Optische Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Kompensationselement (31) ein weiteres  
25   akustooptisches Bauteil (33) ist.

6.           Optische Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass dem akustooptischen Bauteil (13) und dem Kompensationselement (31) eine Vorrichtung zur Generierung eines Strahlversatzes (muss da ein Bezugszeichen hin, z.B. 67 oder 73?) nachgeordnet ist.
- 5   7.           Optische Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das akustooptische Bauteil (13) und das Kompensationselement (31) miteinander verkittet sind.
8.           Optische Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass zwischen dem akustooptischen Bauteil (13) und dem
- 10   Kompensationselement (31) ein Zwischenelement vorgesehen ist, das mit dem akustooptische Bauteil (13) und mit dem Kompensationselement (31) verkittet ist.
9.           Scanmikroskop mit einer Lichtquelle, die einen Beleuchtungslichtstrahl (11) erzeugt und mit einem Detektor (39), der einen
- 15   von einer Probe ausgehenden Detektionslichtstrahl (29) empfängt und mit einem akustooptischen Bauteil (13) zur räumlichen Separierung des Beleuchtungslichtstrahls (11) und des Detektionslichtstrahls (29), dadurch gekennzeichnet, dass ein Kompensationselement (31) vorgesehen ist, das
- 20   eine von dem akustooptischen Bauteil (13) durch Doppelbrechung verursachte Aufspaltung des Detektionslichtstrahls (29) bei einmaligen Durchlauf kompensiert.
10.          Optische Anordnung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass das akustooptische Bauteil (13) ein AOTF (Acousto-Optical-Tunable-Filter) (15) oder ein AOD (Acousto-Optical-Deflector) oder ein AOM (Acousto-
- 25   Optical-Modulator) ist.
11.          Scanmikroskop nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass das Kompensationselement (31) eine von dem akustooptischen Bauteil (13) durch Dispersion verursachte Aufspaltung des Detektionslichtstrahls (29) kompensiert.
- 30   12.          Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 9 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass das Kompensationselement (31) und das

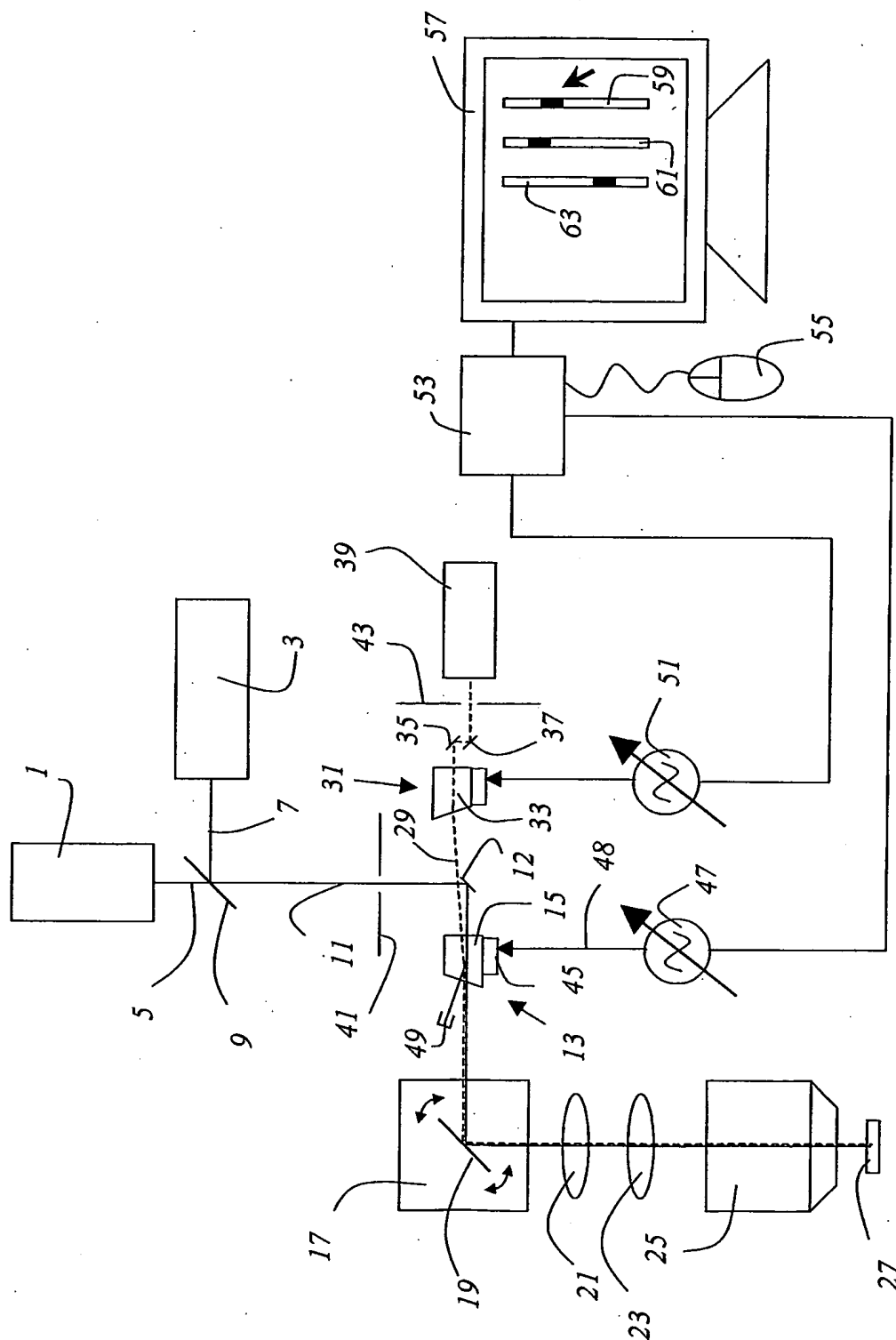
akustooptische Bauteil (13) die gleiche äußere Form aufweisen und das akustooptische Bauteil (13) bezüglich der Ausbreitungsrichtung des Detektionslichtstrahls (29) gegeneinander um 180° Grad verdreht angeordnet sind.

5 13. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 9 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass das Kompensationselement (31) ein weiteres akustooptisches Bauteil (33) ist.

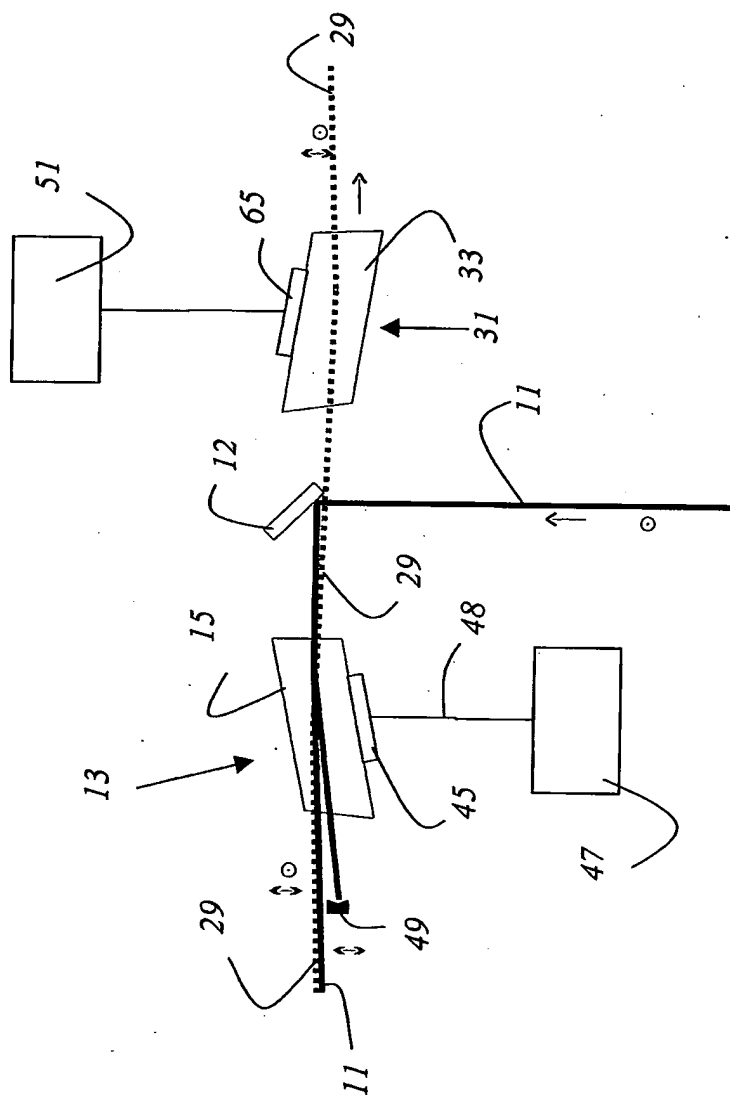
14. Scanmikroskop nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass dem akustooptischen Bauteil (13) und dem Kompensationselement (31) eine  
10 Vorrichtung zur Generierung eines Strahlversatzes nachgeordnet ist.

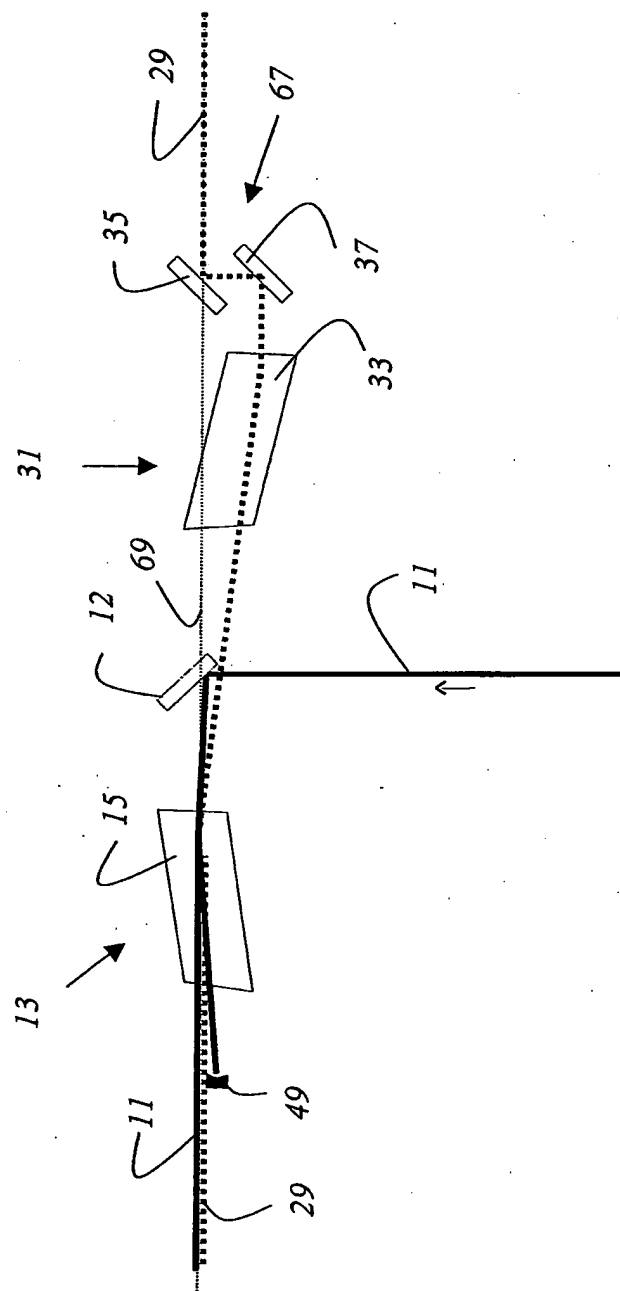
15. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 9 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass das akustooptische Bauteil (13) und das Kompensationselement (31) miteinander verkittet sind.

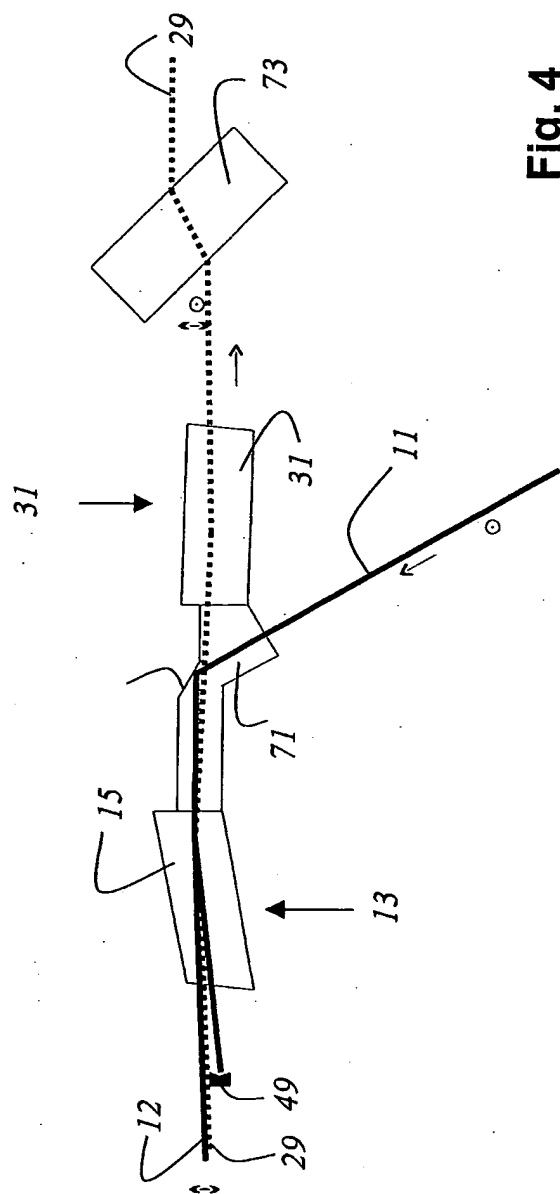
16. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 9 bis 14, dadurch  
15 gekennzeichnet, dass zwischen dem akustooptische Bauteil (13) und dem Kompensationselement (31) ein Zwischenelement vorgesehen ist, das mit dem akustooptische Bauteil (13) und mit dem Kompensationselement (31) verkittet ist.



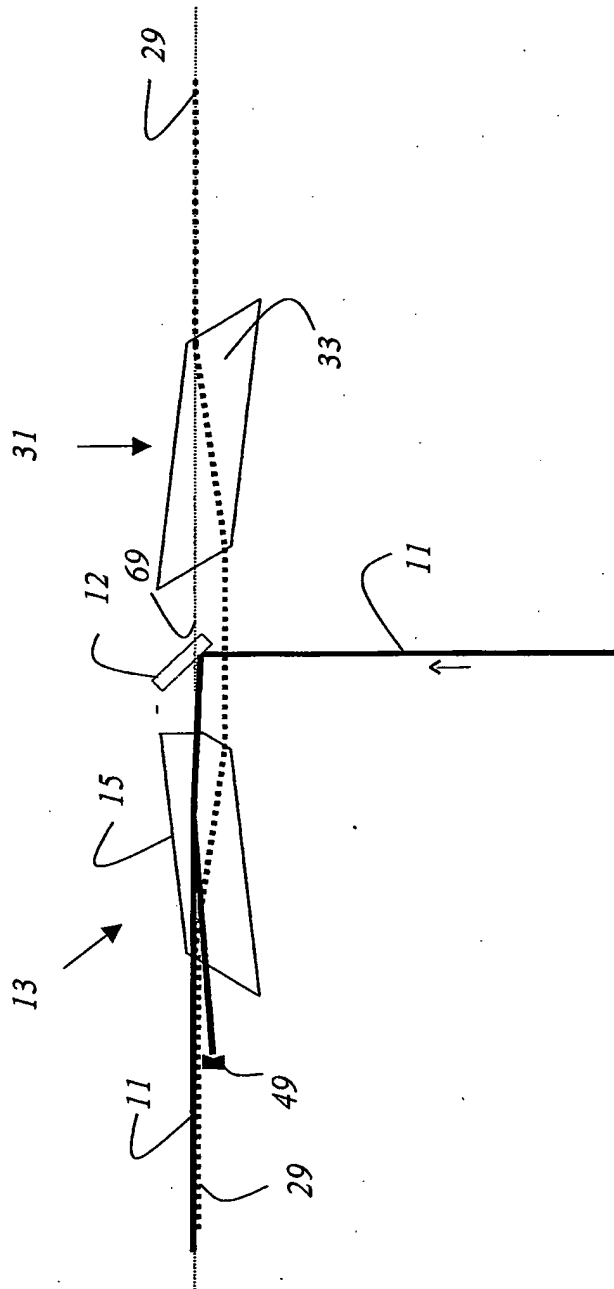
**Fig. 1**

**Fig. 2**

**Fig. 3**



**Fig. 4**



**Fig. 5**



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int ional Application No

PCT/EP 02/08380

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 G02B21/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G02B G01J

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category.*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 199 44 355 A (LEICA MICROSYS HEIDELBERG GMBH) 22 March 2001 (2001-03-22) cited in the application the whole document	1-5,9-13
X	DE 199 06 757 A (LEICA MICROSYS HEIDELBERG GMBH) 2 December 1999 (1999-12-02) cited in the application column 2, line 29 -column 5, line 63 column 7, line 58 -column 8, line 4 figures 5,6	1-5,9-13
X	US 4 541 694 A (SULLIVAN SEAN ET AL) 17 September 1985 (1985-09-17) column 3, line 9 - line 43 figure 2	1-3

-/-

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 October 2002

Date of mailing of the international search report

06/11/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Windecker, R

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 02/08380

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 422 956 A (XEROX CORP) 17 April 1991 (1991-04-17)	1,2
A	column 3, line 11 - line 30 column 5, line 3 - line 11 column 6, line 25 - line 34 figures 1,7,8	3-16
A	US 6 157 660 A (HILL HENRY ALLEN) 5 December 2000 (2000-12-05) abstract	1-16

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 02/08380

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 19944355	A	22-03-2001	DE 19944355 A1	22-03-2001
			EP 1085362 A2	21-03-2001
			JP 2001124997 A	11-05-2001
DE 19906757	A	02-12-1999	DE 19906757 A1	02-12-1999
			WO 9942884 A1	26-08-1999
			EP 1055144 A1	29-11-2000
			JP 2002504708 T	12-02-2002
US 4541694	A	17-09-1985	GB 2117529 A , B	12-10-1983
EP 0422956	A	17-04-1991	US 5251058 A	05-10-1993
			DE 69028270 D1	02-10-1996
			DE 69028270 T2	20-02-1997
			EP 0422956 A2	17-04-1991
			JP 2582182 B2	19-02-1997
			JP 3139672 A	13-06-1991
US 6157660	A	05-12-2000	EP 1192688 A1	03-04-2002
			TW 469681 B	21-12-2001
			WO 0076036 A1	14-12-2000

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int lationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/08380

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 7 602B21/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 602B 601J

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Bez. Anspruch Nr.
X	DE 199 44 355 A (LEICA MICROSYS HEIDELBERG GMBH) 22. März 2001 (2001-03-22) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1-5,9-13
X	DE 199 06 757 A (LEICA MICROSYS HEIDELBERG GMBH) 2. Dezember 1999 (1999-12-02) in der Anmeldung erwähnt Spalte 2, Zeile 29 - Spalte 5, Zeile 63 Spalte 7, Zeile 58 - Spalte 8, Zeile 4 Abbildungen 5,6	1-5,9-13
X	US 4 541 694 A (SULLIVAN SEAN ET AL) 17. September 1985 (1985-09-17) Spalte 3, Zeile 9 - Zeile 43 Abbildung 2	1-3
	-/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

28. Oktober 2002

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

06/11/2002

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Windecker, R

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int. nationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/08380

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 0 422 956 A (XEROX CORP) 17. April 1991 (1991-04-17)	1,2
A	Spalte 3, Zeile 11 - Zeile 30 Spalte 5, Zeile 3 - Zeile 11 Spalte 6, Zeile 25 - Zeile 34 Abbildungen 1,7,8	3-16
A	US 6 157 660 A (HILL HENRY ALLEN) 5. Dezember 2000 (2000-12-05) Zusammenfassung	1-16

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/08380

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 19944355	A	22-03-2001	DE 19944355 A1	22-03-2001
			EP 1085362 A2	21-03-2001
			JP 2001124997 A	11-05-2001
DE 19906757	A	02-12-1999	DE 19906757 A1	02-12-1999
			WO 9942884 A1	26-08-1999
			EP 1055144 A1	29-11-2000
			JP 2002504708 T	12-02-2002
US 4541694	A	17-09-1985	GB 2117529 A ,B	12-10-1983
EP 0422956	A	17-04-1991	US 5251058 A	05-10-1993
			DE 69028270 D1	02-10-1996
			DE 69028270 T2	20-02-1997
			EP 0422956 A2	17-04-1991
			JP 2582182 B2	19-02-1997
			JP 3139672 A	13-06-1991
US 6157660	A	05-12-2000	EP 1192688 A1	03-04-2002
			TW 469681 B	21-12-2001
			WO 0076036 A1	14-12-2000